

Licence Sciences et Techniques (LST)

PROJET DE FIN D'ETUDES

Étude phytochimique des extraits de *Solanum Melongena L.*

Présenté par :

◆ Khadija ABTIL

Encadré par :

◆ Pr Meriem BOUDKHILI

◆ Pr Houria MISBAHI

Soutenu Le 06 juillet 2022 devant le jury composé de :

- Pr Houria MISBAHI

- Pr Said CHAKROUNE

- Pr Abdellah FARAH

Stage effectué à l'école supérieur de technologie de Fès

Année Universitaire 2021 / 2022

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES FES – SAISS

☒ B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

☒ Ligne Directe : 212 (0)5 35 61 16 86 – Standard : 212 (0)5 35 60 82 14

Site web: <http://www.fst-usmba.ac.ma>

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail comme preuve de reconnaissance :

À mes chers parents,

Aucune dédicace ne serait suffisante pour témoigner mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect. C'est à travers vos encouragements et vos critiques qu'on s'est réalisée. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondé en moi.

À mes chères frères et sœurs,

Ton aide, ta générosité, ton soutien ont été pour moi une source de courage et de confiance mon profond amour et ma grande reconnaissance.

À mes très chers amis,

Pour tous les moments du bonheur et de peine que j'ai partagé avec vous.

À mes professeurs et mes encadrants

Je vous dédie ce travail, car vous n'avez épargné aucun effort pour me soutenir et m'orienter, tout au long de mon cursus et mon stage. Vous avez contribué à la réussite de mon parcours par vos conseils et vos instructions précieuses.

Remerciement

Louange à ALLAH qui, par sa grâce infinie nous a permis de conduire ce modeste travail.

Ce travail n'aurait pu voir le jour sans l'aide et les encouragements de tous, alors merci à vous tous pour votre implication dans ce mémoire.

J'adresse mes sincères remerciements à mes deux encadrants, Pr. **Houria MISBAHI** et Pr. **Meriem BOUDKHILI** pour leur aide et leur encadrement tout au long de la période des travaux sur ce projet de fin d'études, pour leur écoute et leur disponibilité. Leurs suivis et de précieuses instructions m'ont été d'une grande utilité afin d'atteindre les résultats escomptés.

J'en profite pour exprimer ma gratitude à tous les doctorants du Laboratoire de l'école supérieure de technologie Fès, et en particulier Mlle Leila Elgueddarri, pour son ouverture et ses conseils tout au long du projet.

Je tiens également à rendre un hommage particulier au corps professoral de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, et aux intervenants professionnels responsables de la formation licence Sciences et Techniques " Génie Chimique".

Enfin, je remercie les membres du jury de m'avoir honoré en acceptant d'évaluer et de juger ce travail.

Liste des sigles et abréviations

% : Pour cent

°C : Degré Celsius

µl : Microlitre

AA : Activité antioxydante

al : Collaborateurs

AlCl₃ : Chlorure d'Aluminium

CAET : Capacité antioxydante équivalente Trolox

CAROH : Capacité antioxydante radicale hydroxyle

cm : centimètre

DPPH: Radical 1,1' diphenyl-2-picrylhydrazyle

EAE : Extraction assistée par enzyme

EAM : Assistée par micro-ondes

EAU : Extraction assistée par ultrasons

EFP : Extraction par fluide sous pression

FeCl₃ : Chlorure ferrique

g : Gramme

H : Heure

HCl : Acide chlorhydrique

M : Mole

mg : Milligramme

ml : Millilitre

nm : Nanomètre

PATR : Paramètre antioxydant total piégeant les radicaux

SC- CO : Extraction au CO₂ supercritique

TFC : Teneur totale en flavonoïdes

TPC : Contenu phénolique total,

TTC : Teneur totale en tanins

Liste des figures

Figure 1: Fruit du Solanum melongena L.	3
Figure 2:Fruits de Solanum melongena L.	10
Figure 3:Ecorce de Solanum melongena L.	11
Figure 4:Photo d'un extracteur de Soxhlet.	12
Figure 5: Photo et schéma d'un Rotavapor.....	13
Figure 6: comparaisons de teneurs en composés phytochimiques entre les deux extraits.	18

Liste des tableaux

Tableau 1: Résultats des Tests phytochimiques de <i>Solanum melongena</i> L.	17
Tableau 2: Concentration d'antioxydants dans la pelure de <i>Solanum melongena</i> L.....	17
Tableau 3: Activité antioxydante d'extrait de <i>Solanum melongena</i> L.	19

Table des matières

Introduction	1
Chapitre 1: Généralités	2
1.1 Généralités.....	3
1.1.1 Noms	3
1.1.2 <i>Solanum melongena L.</i> :.....	3
1.1.3 Antioxydants :.....	4
1.1.4 Polyphénols	4
1.2 Méthodes utilisées dans l'extraction des polyphénols	4
1.2.1 Extraction par solvant classique :.....	5
1.2.2 Méthodes d'intensification de l'extraction conventionnelle par solvant :.....	6
1.2.3 Méthodes de détermination de l'activité antioxydante :.....	7
Chapitre 2: Matériel et méthodes	9
2.1 Matériels de laboratoire :	10
2.2 Matériel végétal :	10
2.3 Méthodes :	11
2.3.1 Extraction des composés phénoliques :.....	11
2.3.2 Extraction des composée phénoliques par Soxhlet :	11
2.3.3 Criblage phytochimique	13
2.3.4 Dosage phytochimique :.....	14
2.3.5 Détermination de l'activité antioxydante :	15
Chapitre 3: Résultats et discussion	16
3.1 Étude Phytochimique de l'extrait de l'écorce de <i>Solanum melongena L.</i> :.....	17
3.1.1 Tests qualitatifs :	17
Conclusion	20

Introduction

Au cours des dernières années, les chercheurs et les industriels de l'agroalimentaire se sont de plus en plus intéressés aux polyphénols. La principale raison de cet intérêt est la reconnaissance des propriétés antioxydantes des polyphénols, leur grande abondance dans notre alimentation et leur rôle probable dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydatif, comme le cancer et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives.

Les polyphénols ont été étudiés de manière exhaustive dans leurs différentes matrices naturelles comme les fruits, les légumes, les thés, les algues et microalgues et plus récemment les déchets agro-alimentaires comme les pelures(écorces), graines, pulpes, tiges et racines...

Le *Solanum melongena L.* est un légume commun consommé dans le monde et particulièrement riche en antioxydants se classant parmi les 10 premiers légumes en termes de capacité antioxydante. Très souvent, la pelure de *Solanum melongena L.* est traitée comme un déchet alimentaire, c'est-à-dire un sous-produit. Il existe plusieurs publications de recherche décrivant les composés phénoliques extraits de *Solanum melongena L.* et les bienfaits pour la santé associés à leur utilisation, Outre l'activité antioxydante de la peau¹.

Dans cette étude, la peau de *Solanum melongena L.* a été étudiée en tant que sources de composés phénoliques, afin de comparer les résultats obtenus avec les résultats de l'étude de L. Boulekbache et .al (2013). Comme premier objectif, dans cette recherche, nous avons voulu tester la présence des polyphénols et de déterminer leur quantité dans la peau du légume et de comparer ses résultats avec les résultats de la recherche cité ci-dessus.

A travers ce rapport, nous sommes intéressés dans le premier chapitre à donner quelques connaissances bibliographiques sur *Solanum melongena L.*, les antioxydants, les polyphénols, et nous avons présenté une information résumée des méthodes les plus couramment utilisées pour l'extraction des polyphénols et de détermination de l'activité antioxydante.

Dns le deuxième chapitre nous avons développé le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction et l'analyse des polyphénol et la méthode pour la mesure de l'activité antioxydante.

Le dernier chapitre été consacrée aux résultats obtenus dans notre étude.

¹ Lila Boulekbache-Makhlouf, Lamia Medouni, Sonia Medouni-Adrar, Lynda Arkoub, Khodir Madani, Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant, Industrial Crops and Products, Volume 49, 2013, Pages 668-674.

Chapitre 1: Généralités

1.1 Généralités.

1.1.1 Noms²

Nom scientifique (latin) : *Solanum melongena L.*

Nom vulgaire français : aubergine (f.).

Nom vulgaire anglais : eggplant.

1.1.2 *Solanum melongena L.* :

Le *Solanum melongena L.* est une plante potagère annuelle de la famille des solanacées, cultivée pour son fruit consommé comme légume. Le terme désigne également ce légume.

Le nom vient du catalan albergínia, lui-même dérivé de l'arabe al-bâdinjân, emprunté au persan bādengân, qui désignait déjà cette plante. Le *Solanum melongena L.* est aussi appelée melongene (ou melongine), terme conservé dans son nom spécifique ainsi que dans l'italien melanzana ou encore en grec melitzána

Synonymes : albergine, ambergine, beringene, breheme, bringèle, marignan, mayenne, melanzane, melongène, mérangène, méringeane, verinjeane, viadase....



Figure 1: Fruit du *Solanum melongena L.*³

² Derek B. Munro, Les légumes du Canada, Conseil national de recherches du Canada, Ernest Small, page 346

³ <https://www.motherearthstorehouse.com/Healthy-Living/Healthy-Foods/Vegetables/Eggplants>

1.1.3 Antioxydants :

Par définition un antioxydant est une espèce chimique qui réduit le stress oxydatif au sein de l'organisme, il peut donc empêcher la synthèse des radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes de réaction, désactivant directement les radicaux libres. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'action : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydatifs, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres.

Les antioxydants sont une variété hétérogène composée de systèmes antioxydants endogènes, enzymatiques ou non, de vitamines, d'oligo-éléments ou de polyphénols.

1.1.4 Polyphénols

Les polyphénols présentent une activité antioxydante encore supérieure à celle des vitamines antioxydantes, telles que les vitamines C et E, et jouent un rôle important dans la prévention des maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, le cancer, le diabète de type 2 et l'ostéoporose. Cette activité bénéfique a été attribuée aux groupes phénoliques dans leur structure, qui sont capables de réduire les espèces réactives de l'oxygène et d'autres substrats organiques ou non organiques. Ainsi, les aliments riches en polyphénols, tous d'origine végétale, tels que le thé vert, le café, les jus de grenade et de myrtille, les noix, le pruneau, le chocolat, la chou rouge, le radis et le *Solanum melongena L.* sont considérés comme des aliments antioxydants⁴.

Le *Solanum melongena L.* fait partie des dix premiers légumes en ce qui concerne la capacité d'absorption des radicaux oxygénés et cela est attribué à sa forte teneur en composés phénoliques. Ces composés sont des flavonoïdes (anthocyanidines responsables de la couleur violette ou pourpre de l'épiderme) ainsi que divers acides phénoliques (principalement des conjugués d'acide hydroxycinnamique, comme l'acide chlorogérique). Les deux sont surtout connus jusqu'à présent comme substrats de la polyphénol oxydase, l'enzyme responsable de l'oxydation des composés phénoliques et qui induit un fort brunissement des tissus coupés ou incrustés. L'oxydation de ces phénols, complétée par l'oxydation des lipides contenus dans les graines (principalement l'acide linoléique), est responsable de la saveur de champignon de le *Solanum melongena L.*, qui est transformée par les pratiques culinaires. Du point de vue sanitaire, les composés phénoliques sont des piègeurs de radicaux libres très efficaces (effet antioxydant) et présentent diverses propriétés pharmaceutiques bénéfiques telles que des effets hypolipémiants, antimicrobiens, anticancérigènes et cardioprotecteurs⁵.

1.2 Méthodes utilisées dans l'extraction des polyphénols

Il est largement admis que l'étape d'extraction est l'une des étapes les plus importantes dans

⁴Ronald Watson, Polyphenols in Plants: Isolation, Purification and Extract Preparation, page 106.

⁵ Jules Janick, Robert E. Paull, The Encyclopedia of Fruit and Nuts, page 877.

l'isolement des polyphénols, mais d'après la littérature, il n'y a pas de consensus sur une méthode d'extraction standard unique et efficace. Au contraire, il existe plusieurs méthodes rapportées avec des résultats très précis, et selon la littérature dans certains cas, l'extraction solide-liquide avec différents types de solvants est plus adéquate, et dans d'autres, la méthode d'extraction assistée par ultrasons (EAU) augmente l'efficacité d'extraction. Tandis que dans d'autres, cet incrément est plus élevé lorsqu'une extraction assistée par micro-ondes (EAM) est utilisée, et des méthodes avancées telles que l'extraction par fluide sous pression (EFP), l'extraction au CO₂ supercritique (SC- CO) et l'extraction assistée par enzyme (EAE) sont encore plus efficaces pour augmenter la teneur en polyphénols des extraits. Malgré cette diversité, elles ont toutes en commun le fait que l'extraction doit être menée avec soin mais de manière exhaustive avec des procédures simples, rapides et réalisables, et si possible ouvertes à l'automatisation⁶. Dans les paragraphes suivants, nous présentons une information résumée des méthodes les plus couramment utilisées pour l'extraction des polyphénols.

1.2.1 Extraction par solvant classique :

L'extraction par solvant classique des polyphénols comprend généralement une extraction par macération et percolation et par extraction successive au Soxhlet.

Macération :

La macération, largement utilisée dans le passé, est aujourd'hui sous-utilisée car d'autres méthodes sont plus réalisables. Il s'agit d'une procédure simple dans laquelle l'échantillon en poudre est trempé dans un solvant approprié dans un récipient fermé, normalement à température ambiante Avec une agitation constante ou sporadique. À la fin de l'extraction, les parties solides doivent être séparées dès le solvant, qui peut se faire par filtration, clarification et/ou décantation. Cette méthode est assez simple à mettre en œuvre mais a pour principal inconvénient de prendre du temps, nécessite un grand volume de solvant.

Percolation :

Similaire à la macération, la méthode de percolation se caractérise par le placement de l'échantillon en poudre dans un récipient fermé (normalement cylindrique) dans lequel le solvant est évacué du haut vers le bas dans un mouvement lent (goutte à goutte). Dans ce cas, la filtration n'est pas nécessaire car le dispositif percolateur possède lui-même un filtre qui est placé au fond, et on ne peut recueillir que le liquide final. Cette méthode est confrontée aux mêmes problèmes de macération, qui sont chronophages, gros volumes de solvant, solubilité des polyphénols, granulométrie de l'échantillon et temps de contact entre le solvant et l'échantillon.

⁶ Marcos Soto-Hernández, Mariana Palma Tenango, Rosario García-Mateos, Phenolic Compounds: Natural Sources, Importance and Applications, pages : 63-64

Extraction Soxhlet :

Dans l'extraction Soxhlet, les échantillons en poudre sont scellés dans des sacs de cellulose et placés dans une chambre d'extraction située au-dessus d'un flacon collecteur sous un condenseur à reflux, et après l'ajout du solvant, le système est chauffé et le solvant se condense après avoir atteint un certain niveau de température. Un reflux se produit en continu. A la fin, l'extrait liquide est collecté dans le ballon positionné sous le système. L'extraction Soxhlet est un procédé continu avec l'avantage d'être moins long et moins consommateur de solvant que les méthodes de macération ou de percolation. Cependant, certains auteurs ont indiqué que l'extraction au Soxhlet doit être manipulée avec précaution car l'excès de température, toujours proche du point d'ébullition, peut détruire ou modifier certains polyphénols thermolabiles. D'autres ont rapporté que l'extraction Soxhlet est largement utilisée en raison de sa commodité. Bien que ceux-ci aient des variations, ces trois méthodes ont l'utilisation commune de solvants organiques dans un rapport solide/liquide. Les solvants tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol, l'acétone, le n-hexane, le chloroforme, le propanol et l'acétate d'éthyle ont été les plus couramment utilisés pour l'extraction des polyphénols. La différence entre les solvants réside dans leur polarité qui affecte leur capacité à extraire les composés phytochimiques. La miscibilité des solvants organiques entre eux ou même avec d'autres types de solvants est un autre fait à prendre en compte pour améliorer le rendement d'extraction des polyphénols comme le montrent plusieurs études.

1.2.2 Méthodes d'intensification de l'extraction conventionnelle par solvant :

Diverses nouvelles techniques d'extraction ont été développées afin d'avoir des méthodes d'extraction plus respectueuses de l'environnement, utilisant moins d'énergie et moins de solvant tout en produisant des rendements plus élevés.

Extraction assistée par ultrasons (EAU) :

L'extraction assistée par ultrasons est une technologie émergente utilisée pour l'extraction des composés naturels. Ces composés sont souvent extraits par la méthode conventionnelle qui dure de nombreuses heures. L'utilisation des ultrasons permet d'effectuer des extractions en quelques minutes avec une reproductibilité élevée, ce qui simplifie l'opération et donne une plus grande pureté au produit final. Les ultrasons interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques. Un effet de cavitation est créé, ce qui facilite la libération des composés extractibles et améliore le transfert de matière en perturbant les parois cellulaires des plantes. Le choix approprié du solvant et de la température permet une meilleure extractibilité des composés phénoliques. De plus, l'optimisation des paramètres d'extraction assistée par ultrasons tels que la fréquence, la puissance des ultrasons, le temps d'extraction ainsi que la distribution d'ondes ultrasonores permet aussi d'augmenter le rendement d'extraction.

Extraction assistée par micro-ondes (EAM) :

L'extraction assistée par micro-ondes est un processus par lequel l'énergie micro-onde accélère l'extraction. Ce traitement accélère la rupture des cellules en provoquant une augmentation rapide de la température et de la pression interne dans les parois des cellules végétales.

Au cours du traitement par micro-ondes, le chauffage provoque la rupture des liaisons hydrogène faibles par la rotation dipolaire des molécules.

Une quantité considérable de pression s'accumule à l'intérieur du biomatériau, qui modifie les propriétés physiques des tissus biologiques et améliore la porosité de la matrice biologique. Ceci permet une meilleure pénétration du solvant d'extraction à travers la matrice et facilite l'extraction des composés entre autres les composés phénoliques. Les principaux paramètres de l'extraction assistée par micro-ondes sont : le type de solvant, la puissance micro-ondes et le temps d'extraction.

1.2.3 Méthodes de détermination de l'activité antioxydante ⁷:

Les différentes méthodes analytiques d'évaluation de la capacité antioxydante se répartissent en trois catégories distinctes, à savoir la spectrométrie, les dosages électrochimiques et la chromatographie.⁸

Dosage CAROH (Capacité antioxydante radicale hydroxyle) :

Cette technique repose sur la mesure de l'activité de chélation des métaux des antioxydants, dans les conditions de réactions de type Fenton. La méthode utilise un complexe Co (II) et évalue donc la capacité de protection contre la formation de radical hydroxyle. La fluorescéine est incubée avec l'échantillon à analyser, puis le mélange Fenton (générant des radicaux hydroxyles) est ajouté. La fluorescence initiale est mesurée, après quoi les lectures sont prises toutes les minutes après agitation. Des solutions d'acide gallique sont utilisées pour construire la courbe standard. Le test CAROH fournit une mesure directe de la capacité antioxydante contre les radicaux hydroxyles briseurs de chaîne hydrophiles

Capacité antioxydante équivalente Trolox (CAET) :

Cette méthode, similaire dans son principe à l'ORAC, utilise un spectrophotomètre à barrette de diodes pour mesurer la perte de couleur lorsqu'un antioxydant est ajouté au chromophore bleu-vert ABTS•+, 2,2'-azino- bis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique acide). L'antioxydant réduit l'ABTS•+ en ABTS, le décolorant. L'ABTS•+ est un radical stable introuvable dans le corps humain.

Méthode PATR (Paramètre antioxydant total piégeant les radicaux) :

Cette méthode utilise un spectromètre à luminescence pour mesurer la décroissance de la fluorescence de la R-phycoérythrine au cours d'une réaction d'oxydation contrôlée. Les valeurs de PATR sont calculées à partir de la longueur de la phase de latence provoquée par l'antioxydant par rapport à celle

⁷ H.A. Moharram & M.M. Youssef, Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review, page 8

⁸ H.A. Moharram & M.M. Youssef, Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review, page 5

du Trolox.

Méthode DPPH :

Ce test mesure par spectrophotomètre la capacité des antioxydants à réduire le 2,2-diphénylpicrylhydrazyle (DPPH). Le composé (DPPH•+) est un cation radical coloré et stable de couleur pourpre. Les composés antioxydants, qui sont capables de transférer un électron à DPPH•+, provoquent une décoloration de la solution. Cette réaction est rapide et proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon.⁹

⁹ <https://libios.fr/solutions-analytiques/stress-oxydatif-capacite-anti-oxydante>.

Chapitre 2: Matériel et méthodes

2.1 Matériels de laboratoire :

Appareillage

Les appareils utilisés pour nos analyses sont :

- Extracteur de soxhlet.
- Évaporateur rotatif type (évaporateur rotatif HAHNVAPOR HS_2005V).
- Balance de précision (précision 0.001g).
- Étuve (WTC binder 7200 TUTTLINGEN/GERMANY).

2.2 Matériel végétal :

Echantillonnage :

La plante étudiée dans cette approche appartient à la famille des Solanacée, connue sous le nom de *Solanum melongena L.* Les fruits de *Solanum melongena L.* ont été achetées du marché local de la ville de Fès, et soigneusement lavés avec de l'eau courante, séchés à la serviette. L'écorce est la partie de *Solanum melongena L.* enlevés par du couteau bien aiguisé. L'écorce de *Solanum melongena L.* est placé sur un papier aluminium et séché dans une étuve à 50 C° pendant 48 h, afin que le légume soit totalement sec. Ensuite, l'échantillon est broyé à l'aide d'un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène pour que l'extraction soit fiable.



Figure 2: Fruits de *Solanum melongena L.*¹⁰

¹⁰ <https://steptohealth.com/beets-and-molasses-a-traditional-remedy-for-ovarian-cysts/>



Figure 3: Ecorce de *Solanum melongena L.* ¹¹

2.3 Méthodes :

2.3.1 Extraction des composés phénoliques :

Dans notre étude, pour l'analyse des composés phénoliques et polyphénoliques, nous avons utilisé l'extraction solide-liquide par la méthode de Soxhlet. En effet, cette technique est facile d'utilisation, très efficace et peut être largement appliquée. Le solvant d'extraction utilisé est l'acétate d'éthyle.

2.3.2 Extraction des composés phénoliques par Soxhlet :

Après le séchage et broyage d'écorces de *Solanum melongena L.*, le corps en verre de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de matière végétale (20g). Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant. Le soxhlet fixé sur un ballon contenant (350ml) d'acétate d'éthyle solvant d'extraction, est chauffé, ainsi, il est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec la matière végétale. Le solvant collecté dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction. L'extraction continue jusqu'à épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction qui s'écoule devient de plus en plus clair c'est-à-dire avec une concentration négligeable de soluté. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant. Cette méthode exige un prétraitement pour le mélange obtenu par Soxhlet par la suite le mélange traversé dans un autre ballon, en utilisant l'évaporateur rotatif pour condenser l'extrait avec récupération du solvant utilisé Extraction par Soxhlet.

¹¹ Photo prise par nous

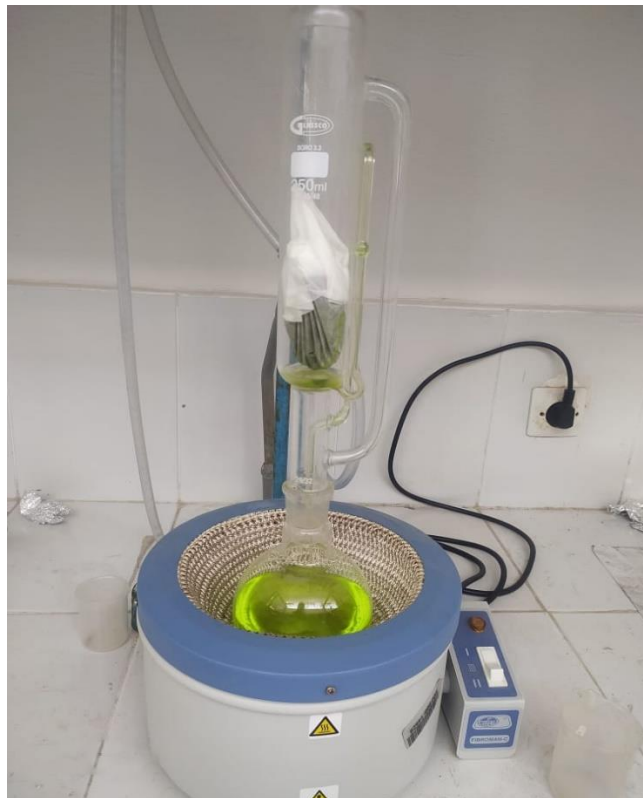


Figure 4: Photo d'un extracteur de Soxhlet¹².

Afin d'éliminer le solvant et récupérer l'extract, nous avons procédé à l'évaporation sous vide en utilisant un appareil Rotavapor. L'évaporateur rotatif est une technique rapide et efficace de séparation qui permet l'extraction d'un solvant dont la température d'ébullition est abaissée en travaillant sous pression réduite,

¹² Photo prise par nous.

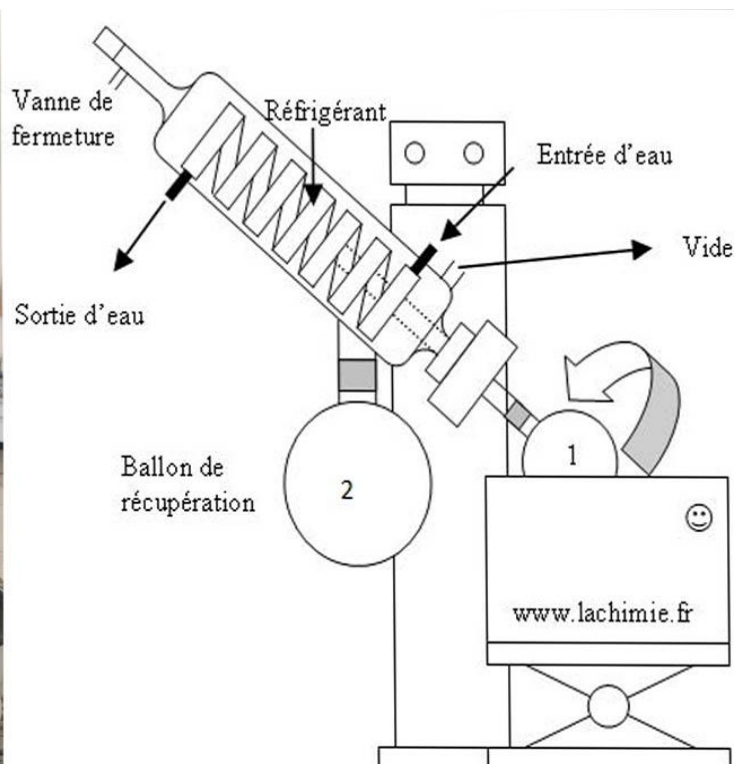


Figure 5: Photo et schéma d'un Rotavapor¹³

2.3.3 Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupements chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physico-chimiques qui identifient la présence de substances chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux dont les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc. Le criblage phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant de déterminer les différents groupements chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physico-chimiques qui identifient la présence de substances chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux dont les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc.

Polyphénols :

Une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique 2% est ajoutée à 2 ml de chaque extrait méthanolique. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols.

Tanins :

¹³ Photo (gauche) prise par nous, schéma (droite) <https://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php>

L'ajout de FeCl_3 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques.

Flavonoïdes :

A une solution de l'extrait méthanolique de chaque plante : (1g du matériel végétal+20ml de méthanol), on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et du copeau de magnésium. La présence des flavonoïdes est indiquée par les colorations rouge, rose, orange ou verte.

2.3.4 Dosage phytochimique :

2.3.4.1 Dosage des tanins :

Un volume de 50 μl de chaque extrait a été ajouté à 1500 μl de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 μl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 $\mu\text{g/ml}$ préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

2.3.4.2 Dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross, 1965) en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 μl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 μl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 $\mu\text{g/ml}$).

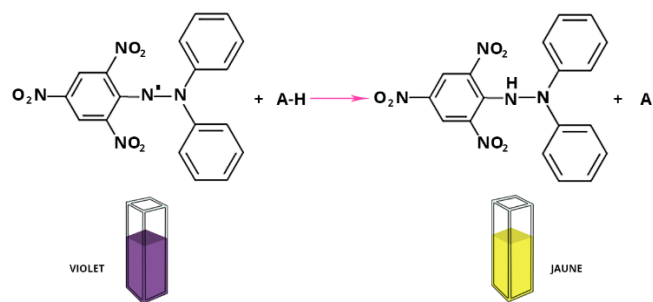
2.3.4.3 Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes totaux dans les extraits de la plante a été réalisé par la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium AlCl_3 . Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par Arvouet-Grand (Arvouet-Grand, 1994). Pour cela, à 0,4 ml de chaque extrait on ajoute 120 μl de nitrite de sodium NaNO_2 à 5%, on agite pendant 6 minutes puis on rajoute 120 μl d' AlCl_3 à 10%, après 5 minutes on rajoute 500 μl de NaOH (1 M), à la fin on ajuste le volume à 2,5 ml avec de l'eau distillée. La quantité de flavonoïdes totaux de l'extrait testé à une concentration fixe est alors calculée l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage à partir des valeurs absorbances mesurées.

2.3.5 Détermination de l'activité antioxydante :

Test DPPH :

Le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violet foncé de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Dong song et al, 2003). L'évaluation de la capacité antioxydante est réalisée selon le protocole adapté par Hanato et al, 1988, mais avec des modifications. 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH (500 µM) a été mélangé à 0,1 ml de l'extrait de la plante. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 1 ml de la solution de DPPH et de 0,1 ml de méthanol. La préparation des échantillons, et du témoin est réalisée dans les mêmes conditions opératoires. Le DPPH• initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle.



L'activité antioxydante (AA) mesurée est calculée suivant la formule ci-dessous :

$$AA\% = \left[\frac{(A_{t0} - A_{t30})}{A_{t0}} \right] \times 100$$

Avec A_{t0} : Absorbance du témoin (ne contient aucun antioxydant) après 30 minutes.

Avec A_{t30} : Absorbance des extraits mesuré après 30 minutes.

Chapitre 3: Résultats et discussion

3.1 Étude Phytochimique de l'extrait de l'écorce de *Solanum melongena L.* :

3.1.1 Tests qualitatifs :

Le criblage phytochimique préliminaire a révélé la présence de polyphénols, de tanins et de flavonoïdes.

Les résultats du test effectué sur les différents extraits ont été enregistrés comme indiqué dans le tableau 1.

Tableau 1: Résultats des Tests phytochimiques de *Solanum melongena L.*

Composés Recherchés	Réactifs utilisés	Solvant d'extraction
		Méthanol
Polyphénols	FeCl ₃	±
Flavonoïdes	Mg ⁺⁺	+++
Tanins	FeCl ₃	+++

Très riche (+++), Détecté (±).

Les résultats de tableau 1 rapportent que les tests phytochimique réalisé ont démontré la présence de polyphénols, flavonoïdes et tanins.

Les tests quantitatifs des trois composés phytochimiques extraits des écorces *Solanum melongena L.* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 2: Concentration d'antioxydants dans la pelure de *Solanum melongena L.*

Solvant	Composés phénoliques totaux (mg GAE/100 g DE)	Flavonoïdes (mg QE/100 g DE)	Tanins (mg TAE/100 g DE)
Méthanol	72,93	10,06	94,54

les travaux de L. Boulekbache et al (2013) ont démontré la présence des flavonoïdes, des tanins et des phénols, le titre de cette étude est : « Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant », soit « Effet de l'extraction des solvants sur le contenu phénolique et l'activité antioxydante du sous-produit de l'aubergine ». Le premier objectif de cette étude et de valoriser la peau de *Solanum melongena L.* tant que les Algériens n'en consomment pas, le deuxième objectif est de sélectionner le solvant qui a conduit aux extraits ayant le pouvoir antioxydant le plus élevé. Pour cela, des extraits ont été obtenus à partir de poudre séchée de pelures de *Solanum melongena L.* à l'aide de différents solvants organiques : 70 % de méthanol, 70 % d'éthanol et 70 % d'acétone,

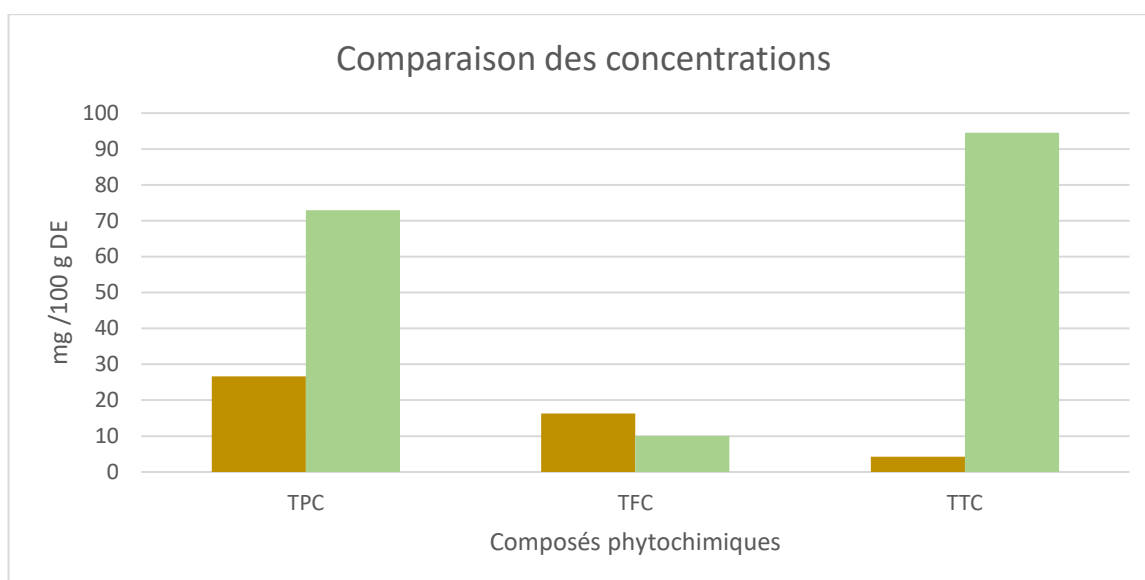


Figure 6: comparaison des teneurs en composés phytochimiques entre les deux extraits.

(TPC : Contenu phénolique total, TFC : teneur totale en flavonoïdes et TTC : teneur totale en tanins)

Contenu phénolique total (TPC) :

La teneur totale en polyphénols des échantillons varie de 26,61 à 72,93 mg GAE/100 g DE. Une différence significative dans la teneur en polyphénols a été détecté. La valeur la plus élevée de polyphénols totaux a été mesurée dans notre échantillon de plus de 270 % en comparaison avec cette étude (L. Boulekbache et al 2013).

Teneur en flavonoïdes (TFC) :

Contrairement aux teneurs en phénolique et en tanins, la teneur en flavonoïdes dans l'étude de L. Boulekbache et al (2013) et plus élevée d'environ 160 % que la teneur trouvée dans notre échantillon, et sont, respectivement 10,06 et 16,26 mg QE/100 g DE.

Teneur en tanins (TTC) :

Les résultats trouvés révèlent une grande différence entre les teneurs en tanins des deux extraits, 94,54 mg TAE/100 g DE et 4,26 mg TAE/100 g DE. En effet, la teneur en tanins obtenue dans notre étude, présente le niveau de référence le plus élevé parmi les trois composés, soit environ 2200 % supérieur à celle obtenue dans les travaux de L. Boulekbache et al (2013).

Activité antioxydante :

L'objectif de ce test est d'évaluer les propriétés anti-oxydantes de *Solanum melongena L.* en comparaison avec l'antioxydant synthétique (BHT). Cette activité peut être également évaluée par la détermination des valeurs IC50 correspondant à la quantité d'extrait nécessaire pour piéger 50% des

radicaux DPPH présents dans le mélange réactionnel, dont les valeurs IC50 élevées indiquent une faible activité, le tableau suivant résume les résultats obtenus :

Tableau 3: Activité antioxydante d'extrait de *Solanum melongena L.*

<i>Solanum melongena L</i>	BHT
8,23 µg/ml	7 µg/ml

Les résultats de nos études sont en cohérence avec les résultats de L. Boulekbache al (2013), particulièrement abondance en substances phénoliques et la présence des flavonoïdes et des tanins, cette étude particulière met en évidence l'importance de l'écorce de *Solanum melongena L.* qu'est souvent jetée en tant que déchet biologique, ce qui entraîne des pertes importantes d'éléments organiques qui contiennent des niveaux élevés de composés antioxydants essentiels.

La variation qualitative et quantitative du contenu en composés phytochimique d'un extrait à l'autre peut être attribuée à plusieurs facteurs : les conditions climatiques, la localisation géographique, la période de récolte, les facteurs génétiques, les conditions expérimentales et les types de solvants...

Conclusion

L'activité antioxydante des polyphénols peut avoir des effets bénéfiques sur la santé et prévenant les maladies. Par conséquent, la consommation de *Solanum melongena L.*, qui contient des polyphénols, ou d'extraits de polyphénols, peut avoir une utilisation thérapeutique potentielle. Notre étude confirme que les polyphénols sont présents, en particulier dans la peau de *Solanum melongena L.*, suggérant l'utilisation du légume entier comme aliment, et son application possible aux produits alimentaires en tant qu'ingrédient naturel.

Références bibliographiques

- Lila Boulekbache-Makhlouf, Lamia Medouni, Sonia Medouni-Adrar, Lynda Arkoub, Khodir Madani, Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant, *Industrial Crops and Products*, Volume 49, 2013, Pages 668-674.
- Derek B. Munro, *Les légumes du Canada*, Conseil national de recherches du Canada, Ernest Small, page 346.
- Ronald Watson, *Polyphenols in Plants : Isolation, Purification and Extract Preparation*, page 106.
- Jules Janick, Robert E. Paull, *The Encyclopedia of Fruit and Nuts*, page 877.
- Marcos Soto-Hernández, Mariana Palma Tenango, Rosario García-Mateos, *Phenolic Compounds : Natural Sources, Importance and Applications*, pages : 63-64
- H.A. Moharram & M.M. Youssef, *Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review*, page 5.
- H.A. Moharram & M.M. Youssef, *Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review*, page 8.
- ¹ <https://libios.fr/solutions-analytiques/stress-oxydatif-capacite-anti-oxydante>.